

Travail de l'Institut de Recherches d'Hygiène
Centre de Paris

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1942

THÈSE

N° 310

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT)

PAR

Maurice HORIOT

Né le 2 août 1916, à Musseau (Haute-Marne)
Ancien Élève de l'École du Service de Santé Militaire de Lyon
Diplômé de Médecine Légale et Psychiatrie
de la Faculté de Médecine de Paris

Présentée et soutenue publiquement le 4 NOV 1942

LA VITAMINE P. P. DU SANG

MÉTHODES DE DOSAGE

TAUX NORMAUX

Président : M. P. ABRAMI, Professeur.

LIBRAIRIE MALOÏNE

Société anonyme d'Éditions Médicales et Scientifiques
27, RUE DE L'ÉCOLE-DE-MÉDECINE, 27

PARIS, 1942

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Nom du Candidat : **HORIOT.**

Prénom : **Maurice.**

Date de la soutenance :

Numéro d'ordre :

1

HORIOT (Maurice). — La vitamine P. P. du sang. Méthodes de dosage, taux normaux. — Paris, Maloine, édit., 1942, in-8°, 48 p.

(Th. méd. (Et.), Paris, 1942,
N°))

2

HORIOT (Maurice). — La vitamine P. P. du sang. Méthodes de dosage, taux normaux. — Paris, Maloine, édit., 1942, in-8°, 48 p.

(Th. méd. (Et.), Paris, 1942,
N°))

3

HORIOT (Maurice). — La vitamine P. P. du sang. Méthodes de dosage, taux normaux. — Paris, Maloine, édit., 1942, in-8°, 48 p.

(Th. méd. (Et.), Paris, 1942,
N°))

4

HORIOT (Maurice). — La vitamine P. P. du sang. Méthodes de dosage, taux normaux. — Paris, Maloine, édit., 1942, in-8°, 48 p.

(Th. méd. (Et.), Paris, 1942,
N°))

Travail de l'Institut de Recherches d'Hygiène
Centre de Paris

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1942

THÈSE

N°

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT)

PAR

Maurice HORIOT

Né le 2 août 1916, à Musseau (Haute-Marne)
Ancien Élève de l'École du Service de Santé Militaire de Lyon
Diplômé de Médecine Légale et Psychiatrie
de la Faculté de Médecine de Paris

Présentée et soutenue publiquement le 194

LA VITAMINE P. P. DU SANG

MÉTHODES DE DOSAGE

TAUX NORMAUX

Président : M. P. ABRAMI, Professeur.

LIBRAIRIE MALOINE

Société anonyme d'Éditions Médicales et Scientifiques

27, RUE DE L'ÉCOLE-DE-MÉDECINE, 27

===== PARIS, 1942 =====

LE DOYEN... BAUDOUIN

I. — PROFESSEURS

MM.

Anatomie	ROUVIÈRE.
Physiologie	Léon BINET.
Physique médicale	STROHL.
Chimie médicale	POLONOVSKI.
Bactériologie	GASTINEL.
Parasitologie et histoire naturelle médicale	BRUMPT.
Pathologie et thérapeutique générales	BAUDOUIN.
Pathologie médicale	N...
Pathologie chirurgicale	QUÉNU.
Anatomie pathologique	LEROUX.
Histologie	CHAMPY.
Pharmacologie et matière médicale	TIFFENEAU.
Thérapeutique	AUBERTIN.
Hygiène et médecine préventive	TANON.
Médecine légale	DUVOIR.
Histoire de la médecine et de la chirurgie	N...
Pathologie expérimentale et comparée	Henri BENARD.
Hydrologie thérapeutique et climatologie	CHIRAY.
	ABRAMI.
	FIESSINGER.
	HARVIER.
	PASTEUR-VALLÉRY- RADOT.
	CATHALA.
	Robert DEBRÉ.
	LAIGNEL-LAVASTINE
	GOUGEROT.
	GUILLAIN.
	LEMIERRE.
	CADENAT.
	GOSSET.
	LENORMANT.
	MONDOR.
	VELTER.
	CHEVASSU.
	COUVELAIRE.
	LÉVY-SOLAL.
	PORTES.
	MOCQUOT.
	LEVEUF.
	LOEPER.
	LEMAITRE.
	BROCQ.
	M. VILLARET.
	TROISIER.
	MATHIEU.
	DONZELOT.
	Clovis VINCENT.
	N...
	DOGNON.
	GIROUD.
	HAZARD.
	JAYLE.
	JOANNON.
	OLIVIER.
	VERNE.
Clinique médicale	
Hygiène et clinique de la première enfance	
Clinique des maladies des enfants	
Clinique des maladies mentales et des maladies de l'encéphale.	
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	
Clinique des maladies du système nerveux	
Clinique des maladies infectieuses	
Clinique chirurgicale	
Clinique ophtalmologique	
Clinique urologique	
Clinique d'accouchements	
Clinique gynécologique	
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie	
Clinique thérapeutique médicale	
Clinique oto-rhino-laryngologique	
Clinique thérapeutique chirurgicale	
Clinique propédeutique	
Clinique de la tuberculose	
Clinique chirurgicale orthopédique	
Clinique de cardiologie	
Clinique de neuro-chirurgie	
Assistance médico-sociale	
Professeurs sans chaire	



II. — AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM.

AMELINE..... Pathologie chirurgicale.
 BARIÉTY..... Pathologie médicale.
 BERNARD Etienne, Pathologie médicale.
 BESANÇON (Justin), Hydrologie.
 BONNET Bactériologie.
 BOULIN..... Pathologie médicale.
 BROUET..... Pathologie médicale.
 BULLIARD.... Histologie.
 CACHERA..... Pathologie médicale.
 CORDIER..... Anatomie.
 COSTE..... Pathologie médicale.
 COUVELAIRE (Roger), Urologie.
 DELARUE Anatomie pathologique.
 DELAY Pathologie médicale.
 DEGREZ (H.)... Physique.
 DESOILLE..... Médecine légale.
 DIGONNET Obstétrique.
 DOGNON Physique.
 FEVRE Pathologie chirurgicale.
 FUNCK-BRENTANO, Pathologie chirurgi-
 cale.
 GALLIARD Parasitologie.
 GARCIN Pathologie médicale.
 M^{lle} GAUTHIER-VILLARS, Anatomie pa-
 thologique.

MM.

DE GENNES... Pathologie médicale.
 HAGUENAU... Pathologie médicale.
 LACOMME..... Obstétrique.
 LANTUÉJOUL, Obstétrique.
 LAVIER Parasitologie.
 LELONG..... Pathologie médicale.
 LEMAIRE Pathologie expérimentale.
 LÉNÈGRE Pathologie médicale.
 M^{lle} J. LÉVY ... Pharmacologie.
 MARCHAL Pathologie médicale.
 MÉNÉGAUX... Pathologie chirurgicale.
 MOLLARET... Pathologie médicale.
 MOUQUIN..... Pathologie médicale.
 PATEL Pathologie chirurgicale.
 PETIT-DUTAILLIS, Pathologie chirurgical
 RENARD..... Ophtalmologie.
 RICHET..... Physiologie.
 SÉNÈQUE..... Pathologie chirurgicale.
 SICARD Pathologie chirurgicale.
 SOULIE Pathologie médicale.
 SUREAU..... Obstétrique.
 TURPIN..... Pathologie médicale.
 WILMOTH Pathologie chirurgicale

III. — AGRÉGÉS RAPPELÉS A L'EXERCICE

POUR LE SERVICE DES EXAMENS

MM.

ALGLAVE..... Pathologie chirurgicale.
 CHAILLEY-BERT Physiologie.
 GUÉNIOT..... Obstétrique.
 HEITZ-BOYER... Pathologie chirurgicale.
 HUGUENIN Anatomie pathologique.

MM.

LE LORIER..... Obstétrique.
 NEVEU-LEMAIRE, Parasitologie.
 PIÉDELIÈVRE.. Médecine légale.
 VAUDESCAL..... Obstétrique.

IV. — AGRÉGÉS CHARGÉS DE COURS DE CLINIQUE ANNEXE

A TITRE PERMANENT

MM.		MM.	
ALAJOUANINE...	Clinique médicale.	BASSET	Clinique chirurgicale.
BRULÉ		GATELLIER...	
CHABROL.....		de GAUDART	
CHEVALLIER....		d'ALLAINES	
LAROCHE Guy...		MOULONG UET	
LIAN		MOURE	
MOREAU			
SÉZARY			

MM.	
ÉCALLE.....	Clinique obstétricale.
VIGNES.....	

V. — CHARGÉS DE COURS

MM.	
CHAILLEY-BERT, agrégé	Éducation physique.
LEDOUX-LEBARD	Radiologie clinique.
DECHAUME	Stomatologie.
N.	Puériculture.

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A LA MÉMOIRE DE MON PETIT MICHEL

A MES PARENTS

En témoignage de mon infinie reconnaissance.

A MA FEMME

A MES FILS PATRICK, JEAN-CLAUDE ET ALAIN

A TOUTE MA FAMILLE



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41551805_0033

A MONSIEUR LE PROFESSEUR P. ABRAMI

Professeur de Clinique médicale à la Faculté de Médecine
Médecin de l'Hôpital Broussais
Commandeur de la Légion d'honneur

*Qui a bien voulu nous faire le grand
honneur d'accepter la présidence de cette
thèse.*

Hommage très respectueux.

A MON MAITRE

LE DOCTEUR HUGUES GOUNELLE

Licencié ès Sciences

Professeur agrégé du Val-de-Grâce

Directeur du Centre de Paris de l'Institut de Recherches d'Hygiène

C'est lui qui nous a inspiré le sujet de ce travail, nous soutenant de ses conseils, de sa grande bienveillance et nous a autorisé à utiliser des documents inédits du Centre.

Qu'il veuille bien trouver ici l'expression de nos vifs remerciements et de notre respectueuse et profonde reconnaissance.

A MONSIEUR Y. RAOUL

Docteur ès Sciences

Directeur de la Section de Biochimie du Centre de Paris
de l'Institut de Recherches d'Hygiène

Dont les travaux sur les techniques actuelles de diagnostic chimique de la Vitamine P. P. ont permis l'élaboration de ce travail.

A MON CAMARADE JEAN MARCHE

Interne des Hôpitaux de Paris
Médecin-Adjoint du Centre de Paris
de l'Institut de Recherches d'Hygiène

Qui nous a amicalement et inlassablement prodigué de judicieux conseils et nous a aidé sans cesse.

Nous lui adressons, avec tous nos remerciements, l'expression de notre affectueuse gratitude et l'assurance de notre entier dévouement.

A MES MAITRES DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE
ET DES HOPITAUX DE PARIS ET DE LYON

A MES MAITRES MILITAIRES

Professeurs à l'Hôpital Desgenettes à Lyon
et à l'Hôpital du Val-de Grâce à Paris

Témoignage de reconnaissance.

A MES CHEFS

A MES CAMARADES DE GUERRE

Officiers, Sous-Officiers et Sapeurs de la 2^e C¹^e
du Génie de la 56^e D. I. et plus particulièrement
à Ceux que la captivité éloigne encore de leurs foyers

A MES AMIS

LA VITAMINE P. P. DU SANG

MÉTHODES DE DOSAGE

TAUX NORMAUX

INTRODUCTION

L'étude de la vitamine P. P. reste un sujet d'actualité ; il s'agit, en effet, d'une vitamine de connaissance récente dont la carence provoque des manifestations cliniques variées mais encore mal définies.

D'autre part, dans l'ère de restrictions alimentaires que nous traversons, où le déficit en viande et en laitage est particulièrement grave, on est en droit de redouter l'éclosion de véritables épidémies, sinon de pellagres, au moins d'avitaminoses nicotiniques.

Les travaux consacrés au facteur P. P. se multiplient aussi bien en France qu'à l'étranger. Après la période historique des dix dernières années, au cours de laquelle les auteurs anglo-saxons firent progresser de façon considérable la connaissance de l'endémie pellagreuse, des travaux français récents eurent le grand mérite de démembrer les avitaminoses nicotiniques et de préciser le taux sanguin de la vitamine nicotinique chez le sujet normal et chez le malade. Ce sont ces travaux que nous souhaitons faire connaître et situer à leur juste place après un bref rappel historique.

Nous nous contenterons d'évoquer les précieuses recherches de C. FUNCK qui, dès 1913, cherchant à obtenir la

vitamine antinévritique à partir des pollissures du riz, réussissait également à isoler l'acide nicotinique et le soupçonnait d'être un facteur capital de la nutrition ; nous rappellerons encore les magnifiques recherches de GOLDBERGER et de son école, poursuivies de 1924 à 1937 et aboutissant à l'isolement de la vitamine P. P. préventive de la pellagre qu'ELEHJEM identifia à l'amide nicotinique.

Ainsi, en 1938, on croyait enfin avoir résolu le problème étiologique de la pellagre ainsi que son problème thérapeutique. Un grand pas avait été fait dans l'étude des avitaminoses nicotiniques grâce aux longues et patientes recherches des auteurs américains que M. Justin BESANÇON eut le mérite de nous faire connaître ; mais on s'aperçut bientôt que la pellagre ne représentait qu'un des aspects de l'avitaminose nicotinique et que beaucoup de problèmes restaient à élucider.

En France, pays épargné par l'endémie pellagreuse, de multiples recherches furent entreprises pour préciser et délimiter le cadre des avitaminoses nicotiniques. Les cliniciens s'évertuèrent de préciser les manifestations pathologiques de cette carence et isolèrent ainsi les formes monosymptomatiques ou frustes. Nous nous devons d'évoquer les multiples travaux de M. Justin BESANÇON et de ses élèves dont une première synthèse fut réalisée dans l'importante thèse de J. M. INBONA (Paris, 1941) que vient de compléter la thèse toute récente d'E. MOREAU sur « Les formes monosymptomatiques des avitaminoses nicotiniques » (Paris, 1941). Nous signalerons, en outre, les recherches de notre Maître, le Professeur agrégé GOUNELLE qui, avec MARCHE et BACHET, décrivit des formes diarrhéiques de l'avitaminose nicotinique, observées chez de grands dénutris en milieu asilaire, en même temps qu'il précisait les caractéristiques de la ration pellagrogène, non spécifiée par une simple carence d'apport en P. P., mais par un ensemble de déséquilibres, au premier rang desquels s'ins-

crit un déficit en aliments d'origine animale (lipides et protides notamment) (*Soc. méd. Hôp. de Paris*, 23 janvier et 13 mars 1942).

Cependant que les cliniciens se fondant principalement sur des tests thérapeutiques, isolaient de multiples aspects au sein de l'avitaminose nicotinique, biologistes et chimistes s'efforçaient de doser la vitamine nicotinique dans les différents milieux organiques.

Posséder un moyen d'évaluer avec précision et sans trop de difficultés d'ordre pratique la richesse d'un organisme en vitamine nicotinique et essayer de préciser aussi l'état de carence ou non de cet organisme : c'est vers cet idéal qu'ont été orientées les recherches de tous ceux qui se sont attachés à l'étude des vitamines. Il en fut de même en ce qui concerne le facteur P. P., mais, comme nous le verrons, parmi les multiples méthodes de dosage proposées à l'étranger, la plupart ne purent être retenues du fait, soit de la difficulté de leur réalisation, soit de leurs causes d'erreur, soit de l'invraisemblance des résultats fournis.

Grâce à MM. LWOFF et QUÉRIDO, dont les patientes recherches furent poursuivies dans le Laboratoire de Physiologie bactérienne de l'Institut Pasteur de Paris, une excellente méthode de dosage de la vitamine nicotinique fut réalisée au moyen du test Protéus. Il s'agit là d'une méthode extrêmement précise mais difficile à vulgariser. Le dosage est long, minutieux, nécessite un personnel très au courant et ne permet pas d'investigations sérieuses. C'est pour obvier à ces difficultés d'ordre pratique que M. Y. RAOUL, avec M^{lle} CRÉPY ont mis au point une méthode chimique à la fois précise et facile à réaliser au laboratoire, permettant d'étendre les investigations à un grand nombre de cas.

Ce sont ces méthodes de dosage de l'amide nicotinique que nous nous proposons d'exposer dans la première partie de ce travail. Dans la seconde partie nous envisagerons

quel est le taux de la vitamine nicotinique dans le sang de l'homme normal et à cet égard nous utiliserons des documents encore inédits du centre de Paris de l'Institut de Recherches d'Hygiène et notamment des résultats de dosages effectués à la section de Biochimie sous la direction de M. Y. RAOUL.

Possédant une méthode de dosage à la fois précise et pratique, connaissant les variations normales du taux de l'amide nicotinique chez le sujet indemne de toute carence, le chercheur pourra étendre ses investigations. Non seulement il y trouvera peut-être un moyen de préciser son diagnostic en présence des formes monosymptomatiques de l'avitaminose nicotinique, mais encore il pourra déceler, les états de précaréance qui paraissent actuellement fréquents. Enfin, il lui sera possible d'étudier avec une plus grande précision le métabolisme encore mystérieux de la vitamine nicotinique ainsi que son mode d'action.

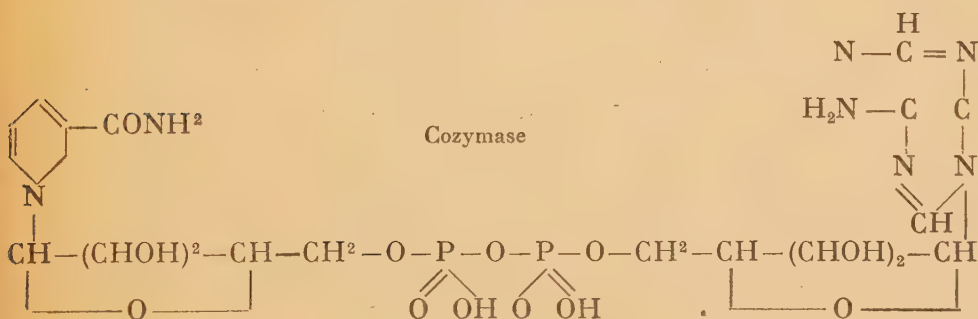
Ce modeste travail n'a d'autre but que de fournir « ces bases » absolument nécessaires pour toute étude sérieuse des avitaminoses nicotiniqes.

PREMIÈRE PARTIE

LE DOSAGE DE LA VITAMINE NICOTINIQUE DANS LE SANG ⁽¹⁾

I. — ETAT DE L'ACIDE NICOTINIQUE DANS LE SANG

L'acide nicotinique se trouve dans les milieux naturels sous forme d'amide. WARBURG et CHRISTIAN ont montré que l'acide nicotinique faisait partie intégrante du Coenzyme II isolé de sang de cheval. Un coenzyme très voisin, sinon identique, constitue la cozymase isolée par V. EULER du complexe en-zy-ma-tique responsable de la fermentation alcoolique. Les coenzymes sont des dinucléotides où les deux bases sont l'amide nicotinique et l'adénine.



Le coenzyme II se trouvant localisé *dans les hématies* on comprend que c'est sur cette partie du sang que doit

(1) La plus grande partie de cette discussion a été relevée intégralement dans les travaux de M. Y. Raoul.

avant tout porter le dosage. D'ailleurs la plupart des auteurs ont signalé la quasi absence d'amide nicotinique dans le sérum. Toutefois MELNICK et FIELD signalent la présence d'une quantité non négligeable (0, 13 mgr. pour 100 cm³) d'amide nicotinique dans le plasma. M. Y. RAOUL a fait la même remarque et l'a signalée dans son travail ; aussi recommande-t-il de ne pas négliger l'investigation séparée dans le plasma et les globules. Il estime qu'il faut tenir compte de la richesse du sang en globules dans l'expression du résultat ; pour ce faire, M. Y. RAOUL évalue actuellement le volume globulaire par rapport au volume plasmatique au moyen d'un hématoците qui fournit un correctif facile à utiliser.

Soit par exemple un sujet normal : le dosage de la Vitamine P. P. dans le sang total donne le chiffre de 8 mgr. 06 par litre. L'hématoците est de 2,22 donc sensiblement normal ; une simple multiplication donne le taux de la vitamine P. P. dans 1 litre de globules, soit 17 mgr. 9 qu'on est en droit de considérer comme une image plus exacte de la richesse du sang en vitamines P. P.

Au contraire, voici un anémique à 2 millions de globules rouges. On trouve 4 mgr. 45 de vitamines P. P. par litre de sang total ; chiffre très bas, mais l'hématoците s'inscrit à 3,33. Appliquant la correction on trouve 14 mgr. 81 par litre de globules, chiffre beaucoup plus élevé et probablement bien plus proche de la réalité. Ce sont là des données à ne pas méconnaître lorsqu'on étudie le rôle de la carence en facteur nicotinique au cours des anémies.

II. — LES MÉTHODES DE DOSAGES

Le dosage de la vitamine nicotinique peut être effectué soit par des méthodes biologiques, soit par des méthodes chimiques.

A) *Les méthodes biologiques.*

Elles sont d'utilisation plus récentes que les méthodes chimiques. Il y a peu de temps encore elles étaient seules utilisées en France.

Les fondements de ces méthodes biologiques étaient de deux ordres : d'une part, comme nous l'avons déjà signalé, WARBURG et CHRISTIAN avaient montré, dès 1935, l'importance capitale dans la physiologie cellulaire de l'acide nicotinique, qu'ils avaient identifié dans les globules rouges puis dans le muscle comme un constituant du co-ferment respiratoire. A peu près à la même époque, VON EULER, ALBERS et SCHLENK avaient identifié l'acide nicotinique dans les produits d'hydrolyse de la cozymase de la levure. Dans ces deux co-ferments de structure analogue et très voisine, intervenant comme accepteur d'hydrogène, l'acide nicotinique joue un rôle très important en tant qu'amide. D'autre part, en application immédiate de ces recherches, WARBURG, STRAUB, KNIGHT, HOLLIDAY, KOSER signalaient que certaines bactéries avaient besoin d'acide (ou d'amide) nicotinique pour leur croissance. Cependant que KNIGHT et ses collaborateurs montraient que ce corps active *in vitro* la croissance du staphylocoque doré, DORFMAN, KOSER et SAUNDERS montraient son action sur certaines SHIGELLA, et surtout P. FILDÉS montrait en 1938 qu'il était à peu près le seul facteur de croissance du B. Protéus. Ces dernières recherches ont été rapidement confirmées par A. LWOFF et QUÉRIDO qui, par une série de remarquables travaux poursuivis à l'Institut Pasteur de Paris, dans le Laboratoire de Physiologie microbienne, mettaient au point une méthode très précise de dosage de l'acide nicotinique dans le sang par le test Protéus.

Le dosage microbiologique de la nicotinamide dans le sang par le test Protéus.

a) **Méthode de A. Lwoff et A. QuérIDO :**
le test Protéus.

Nous ne ferons que rapporter brièvement cette intéressante méthode, renvoyant aux multiples publications de ses auteurs. Se fondant sur la constatation de FILDES que l'acide nicotinique est le seul facteur de croissance pour le Protéus et qu'il existe une relation entre la concentration en facteur de croissance et le nombre de bactéries présentes, MM. LWOFF et QUÉRIDO ont réussi à étalonner cette relation.

1° *Le sang* est recueilli aseptiquement, dilué, hémolysé, centrifugé et filtré sur bougie de CHAMBERLAND L³.

2° *Le milieu de culture* est une variante du milieu de FILDES ; en effet, MM. A. LWOFF et A. QUÉRIDO y ont remplacé le lactate de sodium par du glucose et le sulfate ferreux ammoniacal par du citrate de fer. Ce milieu de FILDES « modifié » se prépare de la façon suivante :

Solution mère.

(NH) ² SO ⁴	0,75 gr.
KH ² PO ⁴	4,50 gr.
KCl	0,50 gr.
MgSO ⁴	0,05 gr.
Eau distillée.....	1.000 cm ³
NaOH à 10 %..... q. s. p.	pH = 7,5

Solution A.

Glucose.....	30 gr.
Eau distillée.....	100 cm ³

Solution B.

Citrate de fer	1 gr.
Eau distillée.....	1.000 cm ³

Ces milieux sont répartis dans des récipients chimiquement propres, bouchés avec du coton hydrophile entouré de gaze hydrophile et stérilisés à 115° pendant 20 minutes.

A 95 cm³ de la solution-mère, on ajoute 1 cm³ de la solution A, et 0,5 cm³ de la solution B.

Le milieu ainsi réalisé est complété par addition de 1 cm³ d'une solution d'acide nicotinique de concentration voulue et de 2 cm³ de culture souche de Protéus.

3° *Cette culture souche* est le Protéus X¹⁹ « Syrie » de la collection de l'Institut Pasteur de Paris. Il faut adapter la bactérie au milieu synthétique. Pour ce faire, on réalise d'abord un très large ensemencement additionné de deux gouttes d'amide nicotinique de 1×10^{-4} pour 8 cm³. L'entretien s'opère par repiquages journaliers à raison de V gouttes de semence pour 8 cm³ de milieu synthétique additionné de II gouttes d'amide nicotinique à 1×10^{-5} . Cet entretien s'opère à 28°, le pH étant fixé entre 6,5 et 7,4.

4° La croissance des bactéries est mesurée au moyen de l'électrophotomètre de P. MEUNIER, 30 heures après l'ensemencement, la culture étant préalablement agitée pendant 20 secondes en prenant garde de ne pas introduire de bulles d'air dans le liquide.

Si toutes ces conditions sont respectées on constate que le développement de la culture est proportionnel à la concentration du milieu en facteur de croissance.

En pratique, on constitue 3 milieux témoins :

- a) un milieu non ensemencé ;
- b) un milieu non ensemencé mais additionné de sang ;
- c) un milieu ensemencé.

Ces milieux témoins sont utilisés dans la correction photométrique : lisant la densité optique des cultures à l'électrophotomètre de MEUNIER, on soustrait au chiffre K ainsi obtenu la somme des densités initiales : densité optique propre du milieu (a) ; densité optique propre du

sang (*b*) ; densité des corps microbiens apportés initialement à l'ensemencement (*c*).

On peut poser l'équation :

$$[K - [c + (b - a)] = k N$$

(*k*) étant une constante et *N* le nombre de corps microbiens produit par l'étuvage, donc proportionnel à la concentration en nicotinamide.

On conçoit donc qu'ajoutant dans une fiole d'ERLENMEYER, à une quantité donnée de sang à étudier, une quantité donnée de milieu de cultureensemencée de *Protéus X*¹⁹ on puisse facilement évaluer le taux de la vitamine nicotinique grâce à des étalonnages préalables.

Les autres méthodes biologiques n'ont pas été utilisées en France. Nous signalerons toutefois que VILTER (R. W.), VILTER (S. P.) et SPIES (T. D.) ont utilisé le bacille *Influenzae* comme test de dosage de l'acide nicotinique dans le sang, que FRASER, TOPPING et SEBRELL ont utilisé le *B. Shigella paradysenteriae* dans le même but.

Elle est fondée sur le test de la croissance du *B. Influenzae* en présence de cozymase contenue dans le sang humain, considéré comme facteur spécifique de croissance.

b) **Méthode de R. W. Vilter — S. P. Vilter et T. D. Spies.**

On utilise une culture de *B. Influenzae* et *parainfluenzae* privé de cozymase ; cinq souches sont ensemencées sur un bouillon additionné de 2 % de sang humain, 2 % de Dipco-Protease peptone et 0,6 % de NaCl. Ce milieu de pH 7,6 est porté à 95° et autoclave. La cozymase, facteur de croissance spécifique, est détruite par l'autoclave. Le sang du sujet en expérience est recueilli par ponction veineuse, on en prend 1 cm³ auquel on ajoute 19 cm³ d'eau distillée ; on chauffe à 85°. Des dilutions croissantes sont faites de ce sang, au 1/2.000^e, au 1/4.000^e, au 1/6.000^e, au 1/8.000^e, au

1/10.000^e, au 1/12.000^e et ajoutées aux cultures autoclavées du B. Influenzae.

Expérimentant leur méthode chez des sujets normaux et chez des pellagres, les auteurs en sont arrivés aux conclusions suivantes :

Des dilutions de sang entre le 1/8.000^e et le 1/12.000^e suffisent chez le sujet normal à faire pousser les B. Influenzae. Par contre, chez des pellagres, des dilutions faibles au 1/2.000^e suffisent à peine à faire pousser les germes. D'ailleurs lorsqu'on administrait la vitamine nicotinique à ces pellagres, le taux du sang nécessaire à la croissance des B. Influenzae devenait aussi faible que chez le sujet normal.

Il s'agit donc là d'une méthode intéressante, mais dont l'utilisation fut assez limitée ; elle ne semble d'ailleurs pas aussi sensible que le test Protéus qui s'y est substitué et dont on possède une grande expérience. Son intérêt est donc plus historique que pratique.

B) *Les méthodes chimiques.*

Elles sont d'utilisation beaucoup plus ancienne.

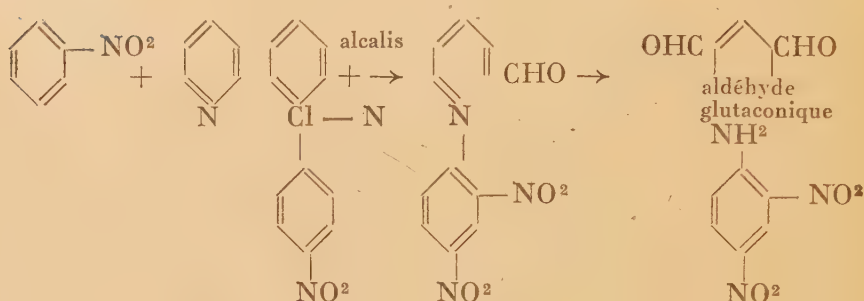
Les fondements de ces méthodes s'expliquent lorsqu'on connaît la constitution chimique de la vitamine nicotinique.

L'acide nicotinique n'est autre que l'acide β pyridine carbonique. Cette structure pyridinique est d'une importance capitale aussi bien au point de vue pharmacodynamique que strictement chimique ; c'est elle qui permet un dosage colorimétrique basé sur l'une ou l'autre des deux réactions suivantes :

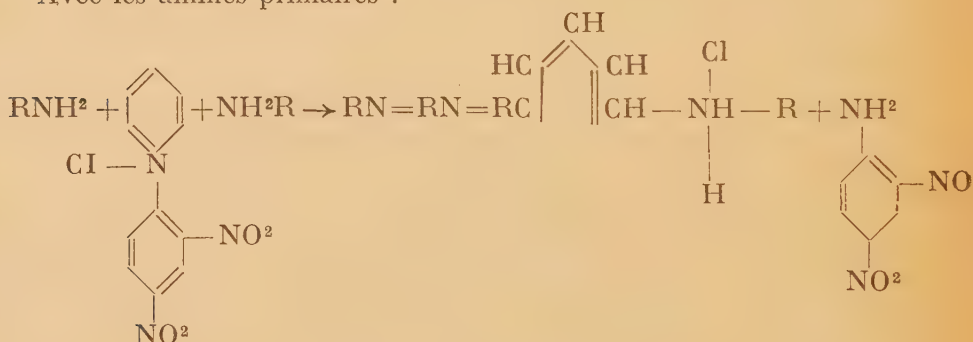
a) **Réaction de Vongerichten, 1899.**

Condensation avec les 2-4 dinitro-chlorobenzène puis action des alcalis ou des amines primaires ou secondaires amenant par rupture du cycle-pyridique la formation de

matières colorantes généralement rouges violacées dérivant de l'aldéhyde glutaconique.

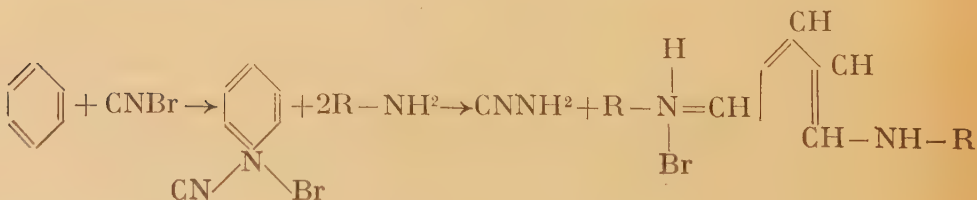


Avec les amines primaires :



b) Réaction de König, 1904.

Dans ce cas il se produit de même une ouverture du cycle de la pyridine sous l'influence des amines mais à partir d'un composé d'addition avec le bromure de cyanogène. La matière colorante obtenue (allant généralement du jaune au violet), dérive encore de la forme tautomère du même aldéhyde glutaconique.



Les deux réactions précédentes présentent le même degré de spécificité : elles sont caractéristiques du cycle pyridique où l'azote est trivalent.

Mais le problème serait simple s'il suffisait de caractériser l'acide nicotinique par ces réactions ; toute la difficulté est d'extraire la vitamine P. P. de son substratum organique sans en perdre par adsorption et en isolant les pigments qui pourraient fausser le dosage colorimétrique.

D'autre part, pour isoler l'acide nicotinique à partir des milieux naturels, une double hydrolyse est nécessaire : une première hydrolyse libère l'amide nicotinique de la cozymase et une seconde permet d'obtenir l'acide à partir de l'amide.

Les différentes techniques. — L'intérêt d'une méthode permettant de déterminer qualitativement et quantitativement la vitamine nicotinique, en série, explique la multiplicité des techniques proposées.

Quelques auteurs ont fondé leur méthode sur l'observation précitée de VONGERICHTEN, réaction colorée de la pyridine avec le 2-4 dinitro-chloro-benzène et un alcali. Nous signalerons, dans cet ordre d'idées, les méthodes de KARRER et KELLER et de VILTER.

Un beaucoup plus grand nombre de chercheurs ont utilisé comme point de départ la réaction de KÖNIG, réaction colorée de la pyridine avec le bromure de cyanogène et une amine aromatique primaire. La coloration obtenue varie du jaune au violet suivant l'amine employée. Cette préférence sur la méthode de KARRER et KELLER s'explique par la plus grande sensibilité et la plus grande commodité d'emploi.

Dès 1930, KULLIKOW et KRESADOWJWJENSKAJA proposaient une technique utilisant la réaction de KÖNIG avec l'aniline comme amide mais elle n'entra jamais dans le domaine de la pratique.

En 1938, SWAMINATHAN mettait au point une méthode réalisant l'extraction de la vitamine nicotinique du sang au moyen d'une défécation phosphotungstique suivie d'une hydrolyse avec 5 % de HCL. Il caractérisait la substance extraite au moyen de la réaction de KÖNIG avec le bromure de cyanogène (CN Br) et l'aniline B.

L'année suivante, P. B. PEARSON, reprenant l'étude de cette méthode, ne lui apportait qu'une légère modification : l'hydrolyse avec 5 % de HCL devrait comporter 3 minutes d'ébullition.

Enfin, en 1940, G. VILLELA modifiait encore la technique de SWAMINATHAN ; après défécation phosphotungstique il pratiquait une adsorption sur terre à foulon en milieu acide, puis une élution en milieu alcalin. La réaction de caractérisation était la même que celle de SWAMINATHAN.

Alors que dans les techniques dérivées de SWAMINATHAN on réalise une véritable défécation au départ, d'autres auteurs ont pour premier but la réalisation d'une hydrolyse acide ou alcaline profonde du sang. Telle est la technique proposée en 1939 par K. RITSERT : après une hydrolyse préalable avec 8 % de HCL pendant 2 heures, suivie de dessiccation, on réalise l'extraction au moyen de C^6H^6 . On utilise l'alcool butylique pour éliminer les pigments qui fausseraient le dosage.

On utilise ensuite la réaction de KÖNIG avec CNBr et l'aniline B pour caractériser la vitamine nicotinique.

La méthode décrite par D. MEINICK et H. FIELD en 1940 est une variante de la précédente, l'hydrolyse préalable se fait aussi avec 8 % de HCL pendant 30 à 40 minutes, mais ensuite les auteurs purifient par précipitation à l'alcool et décolorent avec du charbon actif. L'intérêt de cette méthode réside dans le fait que les résultats fournis diffèrent assez peu de ceux fournis par la méthode de MM. LWOFF et QUERIDO dont nous avons déjà signalé la grande précision.

Nous rappellerons pour terminer la technique de P. KODICEK qui réalise son hydrolyse préalable non plus avec de l'acide chlorhydrique, mais avec 10 % de lessive de soude pendant 1 heure ; qui purifie par précipitation à l'acétone et remplace, dans sa réaction de KÖNIG, l'aniline B habituellement utilisée par la paraminocétophénone.

Reste la technique de E. BAUDIER et J. HALD qui hydrolysent préalablement par la lessive de soude, utilisent la réaction de KÖNIG avec le métol (sulfate de p-méthyl aminophénol) comme amine.

Les lectures se font au photomètre à extinction de PÜLFULCH.

Critique de ces différentes techniques. — Au terme de ce bref aperçu, nous voyons que la plupart de ces biochimistes utilisent la réaction de KÖNIG pour caractériser la vitamine nicotinique ; par contre, leurs techniques, diffèrent en ce qui concerne son extraction, et c'est là le point crucial du dosage. En ce qui concerne les techniques d'extraction, on peut, comme nous l'avons déjà remarqué, les classer en deux groupes :

1° Les techniques dérivées de celles de SWAMINATHAN où l'on réalise au départ *une véritable défécation* ; or, quand on pratique des expériences de quantités, on est frappé de l'irrégularité des résultats ; M. RAOUL, ayant poursuivi une étude minutieuse de ces techniques estime qu'il existe de fréquentes pertes par adsorption.

2° Les techniques dérivées de celles de RITSERT où l'on réalise au départ *une hydrolyse acide ou alcaline*. Le reproche qu'on peut leur faire c'est qu'aucune défécation n'est possible ensuite ; aussi faut-il réaliser des décolorations qui ne sont jamais totales. La réaction colorimétrique se trouve alors très perturbée.

Aussi, dans un cas la caractérisation est précise mais

l'extraction incomplète ; dans l'autre l'extraction est meilleure mais la caractérisation est faussée.

La technique de Y. Raoul et de Mlle O. Crépy.

C'est en vue de remédier aux défauts communs aux différentes techniques que nous venons d'exposer que M. Y. RAOUL et M^{lle} O. CRÉPY proposèrent une nouvelle technique dont la première communication fut publiée dans le *Bulletin de la Société de Chimie biologique* de juillet-septembre 1941.

PRINCIPES DE LA MÉTHODE.

Il en est plusieurs :

1^o *Hémolyser le sang le plus complètement possible dès le départ.* Pour cela, recueillir le sang sur billes de verre que l'on agite pendant un quart d'heure afin de défibriner parfaitement. En outre, après dilution dans plusieurs volumes d'eau, le sang total ou les hématies sont brusquement refroidis dans un mélange réfrigérant (glace et sel) jusqu'à solidification ; puis brusquement réchauffés jusqu'à la température ordinaire. Il s'agit là d'une opération indispensable pour bien laquer les globules.

2^o *Obtenir à partir du sang un filtrat de protéine et privé de pigments, renfermant tout l'acide nicotinique.* Pour obtenir cette solution extractive, M. Y. RAOUL et M^{lle} CRÉPY se rallient au principe de la défécation préalable comme le proposent les méthodes dérivées de SWAMINATHAN. Ayant utilisé différents types de défécation ils se sont ralliés à la défécation par l'hydroxyde ferrique. L'avantage de cette méthode est d'opérer à un pH voisin de la neutralité (pH : 7,2) où la tendance à l'adsorption de l'amide est très faible.

3^o *Hydrolyser l'amide nicotinique en acide nicotinique.* La solution parfaitement incolore obtenue après défécation

ferrique renferme la majeure partie de l'acide nicotinique sous forme d'amide. L'hydrolyse de cette amide peut se faire en milieu acide ou basique. Dans les techniques de SWAMINATHAN et les techniques dérivées : l'hydrolyse se fait par ébullition avec 5 % d'acide chlorhydrique pendant 3 minutes, temps manifestement trop court. Il importe que cette transformation soit totale puisque l'amide nicotinique fournit une coloration n'atteignant guère que le tiers de l'intensité de celle fournie par un même poids d'acide nicotinique. Le tableau suivant que nous empruntons au travail de M. Y. RAOUL et M^{lle} O. CRÉPY rend compte à l'évidence de ce fait.

Conditions de l'hydrolyse	Amide nicotinique mise en jeu, en γ	Amide nicotinique retrouvée évaluée par comparaison avec l'acide nicotinique, en γ
Sans hydrolyse	20	6,6
ClH à 2,5 % pendant 3 min.	20	7
ClH à 2,5 % pendant 15 min.	20	9,7
ClH à 5 % pendant 3 min.	20	6,7
ClH à 5 % pendant 15 min.	20	14,3
ClH à 5 % pendant 30 min.	20	11,4
ClH à 5 % pendant 1 heure	20	18
ClH à 5 % pendant 2 heures	20	21

4^o Enfin pratiquer la réaction de Kônig sur le filtrat ainsi obtenu : elle s'effectue en deux temps :

a) fixer du bromure de cyanogène à chaud en milieu neutre ;

b) fixer une amine, à savoir la paraamino-phényl sulfamide ou 1.162 F en milieu acide. Bien que BAUDIER et HALD aient reproché à la sulfamide de fournir des résultats inconstants, M. Y. RAOUL et M^{lle} CRÉPY l'ont choisie à cause de sa belle coloration jaune aussi intense que celle

fournie par le paraamino-cétophénone recommandé par HARRIS et RAYMOND.

Pour obtenir l'effet maximum de réactif aminé dans ce deuxième temps de la réaction de KÖNIG, il faut être, comme nous l'avons déjà signalé, en milieu nettement acide (pH inférieur à 2). Bien que la para-aminophénylsulfamide soit déjà solubilisée en solution acide, il faut y ajouter une quantité supplémentaire d'acide chlorhydrique pour faire disparaître la coloration non spécifique due à l'action du seul bromure de cyanogène (qui risque de fausser le résultat final) et pour obtenir le maximum d'intensité cette acidification s'opérera toujours après l'addition du réactif aminé et jamais avant.

Reste la *lecture de la réaction*, on utilisera dans ce but l'électrophotomètre de P. MEUNIER. Pour la détermination de l'absorption de base, écrit M. RAOUL, il faut préparer un tube renfermant la solution extractive et tous les réactifs à l'exception du bromure de cyanogène.

Avant HARRIS et RAYMOND les auteurs réalisaient la « base » en omettant leur réactif aminé, ce qui conduisait à des erreurs puisque le bromure de cyanogène peut donner une coloration non spécifique de l'acide nicotinique.

Enfin nécessité d'étalonner à chaque opération l'électrophotomètre avec une solution connue d'acide nicotinique. Cette nécessité reconnue par tous les auteurs ne peut être éludée ; l'intensité de la coloration finale dépendant étroitement de nombreuses conditions non exactement reproductibles. Voici la technique précise utilisée par M. Y. RAOUL et M^{lle} O. CRÉPY au laboratoire de l'Institut national d'Hygiène.

TECHNIQUE.

Réactifs :

Sulfate ferrique à 5 pour 100.

Carbonate de calcium pulvérisé.

Acide chlorhydrique pur et à 50 pour 100.

Soude à 20 pour 100.

Tampon pH : 6,8 $\left\{ \begin{array}{l} 50 \text{ cm}^3 \text{ PO}_4\text{H}^2\text{K M/5} \\ 23,7 \text{ cm}^3 \text{ NaOH M/5} \\ \text{H}_2\text{O qs p } 200 \text{ cm}^3 \end{array} \right.$

Cyanure de potassium à 10 pour 100.

Eau saturée de brome.

p.-aminophénylsulfamide à 10 pour 100 dans l'acide chlorhydrique à 6 % (récemment préparé).

Mode opératoire.

PRÉLÈVEMENT : On prend le sang du sujet à jeun dans un tube à centrifuger gradué renfermant une dizaine de billes de verre petites. Puis, on secoue énergiquement jusqu'à refroidissement complet. On peut alors soit prélever 5 cm³ de sang total (en général on opère l'hémolyse sur une quantité de sang égale à 11 ou 12 cm³ en respectant les proportions indiquées, puis on prélève 2 fois 40 cm³ de sang hémolysé afin de conduire parallèlement deux analyses de 5 cm³ de sang. Il faut que les deux résultats présentent entre eux une différence inférieure à 10 %) ou bien opérer sur les globules et le sérum : à cet effet, centrifuger et noter le volume de plasma et les globules, puis opérer la décantation du sérum que l'on remplace par de l'eau distillée ; après avoir agité, pour obtenir un mélange bien homogène on prélève 5 cm³ correspondant aux globules de 5 cm³ de sang total. De toute façon il faut noter les volumes globulaire et plasmatique.

Solution extractive.

Dans un erlenmeyer de 250 cm³ mettre

{	5 cm ³ de sang total, ou 5 cm ³ de sérum, ou 5 cm ³ de globules ramenés au volume sanguin.
---	---

Ajouter 35 cm³ d'eau distillée (l'eau utilisée à tous les stades doit être distillée dans un appareil en verre). Agiter et plonger l'erlenmeyer dans un mélange réfrigérant glace-sel ; après 1/4 d'heure, le tout doit être pris en masse ; laisser encore 3/4 d'heure. Réchauffer rapidement sur une flamme nue pour obtenir un liquide homogène à température ordinaire que l'on abandonne encore 1 heure.

Ajouter 10 cm³ de solution de sulfate ferrique à 5 % ; bien agiter et abandonner 1/2 heure. Ajouter alors 1 gr. de carbonate de calcium bien pulvérisé. Agiter et écraser les grumeaux avec l'extrémité d'un agitateur. Porter rapidement à l'ébullition en ajustant l'erlenmeyer sous un réfrigérant à reflux. Tourner la fiole pendant le chauffage. Le départ de CO₂ provoque une mousse abondante que l'on laisse monter jusqu'à 2 ou 3 cm. du col. On laisse refroidir un peu et laisse tomber les mousses. A l'aide d'un agitateur, on fait rapidement redescendre dans le liquide les parties collées sur les parois. On filtre également très vite sur un bon filtre placé sur une éprouvette graduée et recouvert d'un verre de montre pour éviter au maximum l'évaporation. On note le volume de liquide recueilli (généralement $v = 35$ cm³ environ) lequel doit avoir l'aspect d'eau pure.

Hydrolyse.

Transvaser dans une capsule en pyrex et concentrer au bain-marie bouillant jusqu'à 15 cm³. Il se produit alors un dépôt de sulfate de calcium (SO₄CA). Après grattage des parois, on filtre, puis rince avec 1 ou 2 cm³ d'eau chaude. La solution est alors transvasée dans une fiole à col rodé surmonté d'un réfrigérant. On ajoute 5 % d'acide chlorhy-

drique concentré ($0,75\text{ cm}^3$ pour 15 cm^3) et porte à l'ébullition franche pendant 2 heures.

Neutralisation.

On transvase le liquide refroidi dans une petite éprouvette ou mieux dans une fiole jaugé à 20 cm^3 et neutralise très exactement avec NaOH à 20 % en s'aidant d'un indicateur externe (bleu de bromothymol) jusqu'à obtenir la teinte verte sensible correspondant à pH : 6,8 (nous utilisons le coffret de BRUÈRE). On ajoute alors $1,5\text{ cm}^3$ de tampon à pH 6,8 et complète à 20 cm^3 de l'eau distillée.

Réaction de Kônig.

Dans trois tubes à essai A-B-C on mesure 5 cm^3 de solution neutralisée.

Dans le tube B : $0,2\text{ cm}^3$ d'une solution d'acide nicotinique correspondant à 10 γ .

Dans les tubes A et C : $0,2\text{ cm}^3$ d'eau distillée.

On place 3 tubes A B C dans un B M à thermostat réglé exactement à 80° pendant quelques minutes pour les porter à 80° .

A ce moment apparaît un précipité qui disparaît ultérieurement quand on ajoute le réactif aminé. Il ne faut donc pas filtrer à ce stade.

Dans les tubes A et B on ajoute 1 cm^3 de solution BrCN extemporanément préparée, en ajoutant à de l'eau saturée de brome de la solution de CNK à 10 %, goutte à goutte jusqu'à décoloration.

Dans le tube C : 1 cm^3 d'eau distillée.

On laisse les trois tubes dans le thermostat à 80° pendant exactement 2 minutes puis on refroidit sous un robinet et abandonne pendant 15 minutes à l'obscurité. On prépare alors dans un tube à part, un mélange de 3 cm^3 de réactif aminé et de 2 cm^3 d'acide chlorhydrique à 50 %. On ajoute $0,5\text{ cm}^3$ de ce mélange à chacun des trois tubes

A B C. On fait la lecture à l'électrophotomètre de P. MEUNIER (écran bleu, diaphragme 9, cuve de 17 mm. d'épaisseur) 1 minute après l'addition du réactif.

Calcul.

Soient A, B et C les valeurs trouvées pour les tubes A, B et C. L'acide nicotinique, exprimé par γ pour 100 cm³ de sang total ou 100 cm³ de sérum ou dans les globules de 100 cm³ de sang sera donné par la formule :

$$\frac{(A - C) \times 40.000}{(B - A) \times V}$$

On doit également exprimer le résultat par rapport au volume globulaire en utilisant l'expérience faite sur les globules et en multipliant le résultat par l'inverse du rapport :

$$\frac{\text{Volume globulaire}}{\text{Volume sang total.}}$$

DEUXIÈME PARTIE

LE TAUX DE LA VITAMINE PP DANS LE SANG DE L'HOMME NORMAL

Toute étude du métabolisme du facteur nicotinique et des manifestations carentielles engendrées par son absence ne saurait être entreprise sans qu'on connaisse de façon précise quel est le taux de l'amide nicotinique dans le sang de l'homme normal. Or, on ne possède de précisions sur cette valeur que depuis fort peu de temps. Il faut attendre les travaux de MM. LWOFF et QUERIDO, puis de M. RAOUL pour obtenir un chiffre à peu près fixe dans ses limites.

En effet, comme on peut s'en rendre compte dans le tableau suivant, les chiffres fournis par des chercheurs tels que SWAMINATHAN, K. RITSERT, G. VILLELA sont à la fois fort peu nombreux (quelques cas) et très bas (0,30 à 0,50 mmgr. pour 100 cm³ de sang). Plus récemment encore, HÜLLSTRUNG et STEITZ ont pratiqué des dosages plus nombreux mais, comme le fait remarquer très justement M. LWOFF; là encore les résultats obtenus sont trop variables pour qu'on puisse en tenir compte (de 0,035 à 0,275 mmgr. d'un jour à l'autre).

*Taux de l'acide nicotinique dans le sang
chez le sujet normal.*

Auteurs	Résultats
M. SWAMINATHAN.	3 chiffres : 0,53 mgr. } 0,37 mgr. } pour 100 cm ³ sang. 0,33 mgr. }
K. RITSERT.	0,33 à 0,46 mgr. pour 100 cm ³ de sang.
D. MELNICK et H. FELD.	0,72 mgr. pour 100 cm ³ de sang total oxalaté. 0,13 mgr. pour 100 cm ³ de plasma.
G. VILLELA.	en moyenne 0,36 mgr. pour 100 cm ³ de sang total.
H. HÜLLSTRUNG et F. STEITZ.	0,035 à 0,275 mgr. pour 100 cm ³ de sang total.
A. DORFMAN, S. KOSER, HOR- WITT, BERKMANN et SAUN- DERS.	0,49 à 0,68 mgr. pour 100 cm ³ de sang total.
A. LWOFF et A. QUERIDO.	0,70 mgr. pour 100 cm ³ de sang total.

Avec D. MELNICK et H. FELD qui évaluent à 0,72 mgr. pour 100 cm³ de sang total et 0,13 mgr. pour 100 cm³ de plasma, le taux de la vitamine nicotinique chez l'homme normal, on semble s'approcher de la vérité. Celle-ci doit être recherchée pour la première fois dans les chiffres fournis par M. LWOFF qui opéra avec une extrême minutie, sur un nombre important de cas et obtint des résultats d'une remarquable constance.

**Résultats fournis par la méthode biologique
de A. Lwoff et A. Quérido.**

Ayant pratiqué environ 180 dosages sur des sujets normaux ou sur des malades atteints d'affections diverses, MM. LWOFF et QUERIDO fixent aux environs de 0,8 mgr. pour 100 cm³ de sang total le taux d'acide nicotinique chez l'homme normal. Ils font remarquer que des valeurs plus élevées (jusqu'à 1, 2 mgr.) peuvent s'observer mais que les valeurs inférieures sont non seulement rares mais pathologiques. Ils insistent sur la fixité du taux physiologique entre 0,7 et 0,9 mgr. pour 100 cm³ de sang total et considèrent que les chiffres compris entre 0,6 et 0,7 mgr. présentent une valeur d'alarme alors que les chiffres inférieurs à 0,6 mgr. doivent être considérés comme franchement pathologiques.

**Résultats fournis par la méthode chimique
de Y. Raoul et O. Crépy.**

Comme nous l'avons déjà fait remarquer, outre la précision de ses résultats, la méthode biochimique de M. Y. RAOUL et M^{lle} O. CRÉPY possède l'immense avantage de permettre des dosages en série du fait de la relative facilité de sa technique. Aussi, depuis le début de la présente année, de très nombreux dosages ont été pratiqués chez des sujets normaux ou malades, au Centre de Paris de l'Institut de Recherches d'Hygiène, que dirige M. le Professeur agrégé GOUNELLE, et où nous avons eu l'honneur d'être admis à travailler pour la préparation de cette thèse. La plupart des dosages ont été pratiqués au cours du 1^{er} semestre de l'année 1942 à la section de Biochimie du Centre dirigée par M. Y. RAOUL.

Nous ne retiendrons que ceux pratiqués chez des sujets apparemment normaux et ne présentant aucun trouble

morbide évocateur de pellagre. Nous pouvons donc les considérer comme des témoins.

Il s'agissait d'adultes de tous âges, dont la nourriture était ou bien celle du milieu familial, ou bien celle de l'hôpital. La plupart d'entre eux n'avaient à consommer que les produits fournis par le rationnement officiel, appartenant à une classe très moyenne et ne recevant que de rares colis.

Il est à noter en outre que l'enquête fut poursuivie au cours du premier semestre de l'année 1942, pendant les mois d'hiver et de printemps ; or on sait que ce fut de toute évidence la période du plus grand rationnement pour les citadins du fait des difficultés de ravitaillement.

Toutes ces données nous incitent donc à considérer les taux de facteur nicotinique sanguin relevés au cours de notre enquête comme non seulement l'indice vitaminique des sujets sinon normaux du moins cliniquement sains, mais encore comme « un indice d'actualité ».

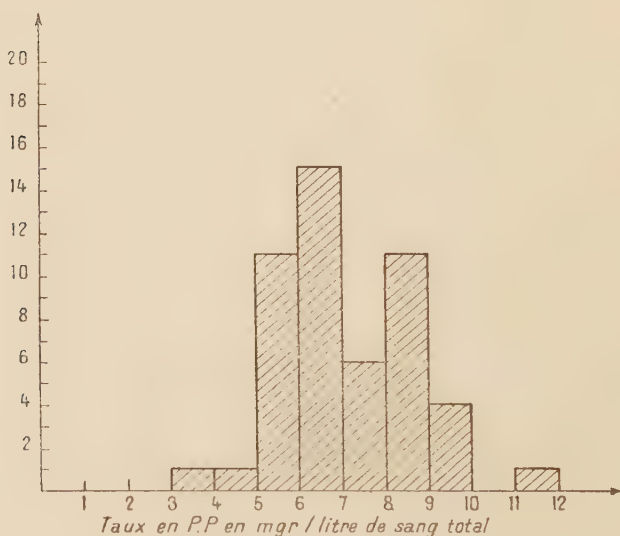


Diagramme par fréquence, groupés selon leur taux de nicotinamidémie, de 50 sujets en bonne santé.

Nous rapportons dans le tableau suivant, les chiffres trouvés chez 50 sujets de cette catégorie résultats encore inédits (1).

Un diagramme rend encore mieux compte des ordres de valeurs le plus fréquemment rencontrés.

Nous trouvons ainsi :

1 cas entre	3 et 4 mgr. soit		2 %
1 —	4 et 5 — soit		2 %
11 —	5 et 6 — soit		22 %
15 —	6 et 7 — soit		30 %
6 —	7 et 8 — soit		12 %
11 —	8 et 9 — soit		22 %
4 —	9 et 10 — soit		8 %
1 —	11 et 12 — soit		2 %

(1) Rappelons que nos valeurs s'expriment en milligr. par litre de sang total.

**Taux de Nicotinamidémie de 50 sujets normaux à Paris
en 1942.**

Sujets	P. P. dans le sang total (mgr. par litre)	Sujets	P. P. dans le sang total (mgr. par litre)
1	7,87	26	5,44
2	8,96	27	3,99
3	9,12	28	5,36
4	6,72	29	6,34
5	6,77	30	8
6	5,41	31	8,06
7	9,4	32	8,64
8	7,35	33	7,57
9	9,75	34	6,39
10	8,70	35	8,07
11	6,03	36	6,78
12	8,04	37	8,87
13	6,21	38	6,49
14	6,17	39	7,79
15	6,87	40	5,54
16	8,74	41	6,67
17	4,94	42	9,30
18	5,84	43	5,62
19	6,23	44	5,36
20	8,50	45	6,82
21	5,33	46	5,79
22	5,25	47	7,89
23	6,11	48	7,22
24	11,36	49	5,07
25	6,15	50	8,48

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Si l'on admet avec MM. LWOFF et QUÉRIDO et leurs collaborateurs que le taux normal de la nicotinamidémie ne varie guère physiologiquement qu'entre 7 et 9 mgr. par litre, que les chiffres compris entre 6 et 7 mgr. présentent une valeur d'alarme et que les taux inférieurs à 6 mgr. doivent être considérés comme franchement pathologiques, nous trouvons :

1° dans la zone normale, au-dessus de 7 mgr. 22 cas soit 44 % ce qui ne représente même pas la moitié des sujets observés ;

2° dans la zone d'alarme, entre 6 et 7 mgr. 15 cas soit 30 % du total.

3° dans la zone considérée comme franchement pathologique, au-dessous de 6 mgr. 13 cas soit 26 % du total.

Il est à noter en outre que le groupe le plus important se situe entre 5 et 7 mgr., donc au-dessous des chiffres considérés jusqu'alors comme normaux. Ajoutons à ces 26 sujets deux autres cas se situant au-dessous de 5 mgr., nous voyons que 28 sujets sur 50 soit 56 % ont des valeurs de nicotinamidémie inférieures à celles que M. LWOFF considère comme la limite inférieure de la normale. Mais, ce qui est encore plus remarquable, c'est qu'ayant examiné ces sujets cliniquement, avec la plus grande minutie, aucun d'entre eux ne présente le moindre stigmate évoquant une avitaminose nicotinique, qu'il s'agisse de manifestations cutanées, digestives ou mentales.

CONCLUSIONS

Le taux sanguin de la vitamine nicotinique chez l'homme cliniquement sain, apparemment normal, nous apparaît actuellement très abaissé par rapport aux chiffres fournis par M. LWOFF et ses collaborateurs. Il ne nous semble pas que le chiffre de 6 mgr. par litre puisse être considéré comme un taux limite au-dessous duquel le sujet devrait être considéré obligatoirement comme un malade : 20 % de nos sujets ont moins de 6 mgr. d'amide nicotinique par litre de sang total et ne présentent aucune manifestation pathologique ; on est donc en droit de les considérer comme des sujets sains et « actuellement » normaux.

Au total, au terme de cette enquête, il nous semble nécessaire d'élargir vers le bas les taux considérés jusqu'ici comme normaux ; toutefois si nos sujets sont demeurés jusqu'à présent indemnes de toute manifestation clinique, en comparant nos chiffres avec ceux fournis par M. LWOFF et ses collaborateurs lors d'enquêtes antérieures, on peut se demander s'ils sont en parfait équilibre de santé ou s'il faut voir dans ces taux abaissés l'incidence des conditions alimentaires actuelles auxquelles est soumise la population parisienne, ces taux bas trouvant leur explication dans une carence relative occulte. Mais il reste quand même le fait que cliniquement les sujets étaient des témoins sans aucun signe pathologique et que force

nous est d'admettre qu'un taux au-dessous de 6 mgr. est compatible avec un état de santé apparemment normal.

L'avenir pathologique de ces sujets à nicotinamidémie basse pourra à cet égard apporter la réponse définitive.

Vu : le Président de la thèse,

P. ABRAMI.

Vu : le Doyen,

A. BAUDOUIN.

Vu et permis d'imprimer :

Le Recteur de l'Académie de Paris,

Gilbert GIDEL.

BIBLIOGRAPHIE

- BANDIER (E.) et HALD (J.). — *C. R. Labor. biochim. Copenhague*, S. 13. déc. 1938.
- BANDIER (E.). — *Biochem. Journ.*, 1939, 33, p. 1787.
- BARTA. — *Biochem. Ztschr.*, 1935, 277, 412.
- BECKH (W.), ELLINGER (P.) et SPIES (T. D.). — *Quart. Journ. med.*, 1937, 30, p. 307.
- BESANÇON (L.-J.). — *Presse médicale*, n° 18, 341, 4 mars 1939.
- BESANÇON (L.-J.), CAROLI (I.) et INBONA (J. M.). — *Bull. et Mém. soc. méd. Hôp. Paris*, n° 24, 1135, 17 juillet 1939.
- BIRCH (T. W.) et GYORGY (P.). — *J. Soc. Chem. Ind.*, 54, 507, 24 mai 1935 et HARRIS (L. J.), *Bioch. J.*, déc. 1935, 29, 1830.
- BRUNING (A.) et SCHNETKA (M.). — *Chem. Zeit.*, 1934, 58, 156.
- BALLIF (L.), LWOFF (A.), QUERIDO (A.) et ORNSTEIN (I.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1939, 131, p. 903.
- ELVEHJEM (C. A.), MADDEN (R. J.), WHOOLEY (D. W.) et STRONG (F. M.). — *Journ. Am. Chem. Soc.*, 1937, 59, p. 1767.
- EULER (H.) et MALMBERG. — *Bioch. Zeitschr.*, 284, 455, 1926.
- EULER (H.), HANS, ALBERS, SCHLENK (F.). — *Zeitschr. f. physiol. chem.*, 237, 1, 1935.
- EULER (H. V.), SCHLENK (F.), HEIWINKEL (H.) et HOGBERG (B.). — *Ztschr. für physiol. Chem.*, 1938, 256, 208.
- EULER (H.), ALBERS (H.) et SCHLENK (F.). — *Ztschr. für physiol. Chem.*, 1935, 237, 1.
- EULER (H. V.) et SCHLENK (F.). — *Klin. Wochenschr.*, 1939, 18, 1109.
- FIESSINGER (N.), ALBEAUX-FERNET (M.), LWOFF (A.) et QUERIDO (A.). — *Bull. et Mém. Soc. Méd. Hôp. Paris*, 7 juillet 1939, n° 24.
- FILDES (P.). — *Brit. Journ. exper. Pathol.*, 28, 239, 1938.
- FIKENTSCHER (R.). — *Biochem. Ztschr.*, 1932, 249, p. 257.
- FUNCK (C.). — *J. Physiologie*, 46, 173, 1913.

- FUNCK (C.) et FUNCK (I. C.). — *Proc. soc. biol. Chemists*, 31, 35, 1937.
- GAIL (G.). — Inaugural. Dissertation. Marburg, 1899.
- GOLDBERGER (I. Ch.), WARING et WILLETS (D. G.). — *Publ. Health Rept*, 1915, 30, p. 3117.
- GOLDBERGER (J.) et SEBRELL (W. H.). — *U. S. Publ. Health Rep.*, 45, 3064, 12 déc. 1930.
- GOUNELLE (H.), MANDE (R.) et BACHET (M.). — Observations cliniques et biologiques sur des cas groupés de pellagre. Fréquence des formes diarrhéiques. *Soc. Méd. des Hôp. de Paris*, 23 janvier 1942.
- Etude d'une ration déterminant de la pellagre. Comparaison avec certaines rations actuelles, équivalentes énergétiquement et comportant des taux comparables de Vit. P. P. *Soc. Méd. Hôp. Paris*, 13 mars, 1942.
- GRANT (J. M.), ZSCHIESCHE (E.) et SPIES (T. D.). — *Lancet*, 1, 939, 23 avril 1938.
- HARRIS (L.). — *Lancet*, 2, 147, 1937.
- HARRIS (L.) et RAYMOND (W. D.). — *Biochem. Journ.*, 1939, 33, 2, 2037.
- HARLAY et MALANCEAU. — *Journ. pharm. chem.*, 1939, 30 (8), p. 105.
- HÜLLSTRUNG (H.) et STEITZ (F.). — *Klin. Wochenschr.*, 20, 1944, 612.
- INBONA. — Etude clinique des avitaminoses nicotiniques. Thèse Paris, 1941.
- KAHANE (E.) et LÉVY (M^{lle} J.). — *Bull. soc chim. biol.*, 1939, 21, 230.
- KARRER (P.). — *Organic Chemistry*. Amsterdam, 1938.
- KARRER et KELLER. — *Helv. Chim.*, Act 21, 463, 1938.
- KNIGHT. — *Bioch J.*, 31, 960, 1937.
- KNIGHT et Mc ILWAIN. — *Bioch. J.*, 32, 1241, 1938.
- KOEHN (J. C.) et ELVEHJEM (C. A.). — *J. biolog. chem.*, 118, 693, 1937.
- KOENIG. — *J. Prakt. Chem.*, 69, 105, 1904.
- KOENIG (J.). — *Für Prakt. Chem.*, 1904, 70, 19.
- KODICEK (E.). — *Biochem. Journ.*, 1940, 34, 712, 724.
- KULIKOW et KRESADOWSDWIGENSKAJA. — *2 Anal Chem.*, 79, 452, 1930.
- LATASTE (M^{lle} C.). — *Soc. Path. Exotique*, 1939, 22, p. 784.
- LUNEAU. — *Journ. Pharm. Chem.*, 1937, 26, 256.

- LWOFF (A.) et QUERIDO (A.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1938, 129, 1939 ; 1939, 130, 1569.
- LWOFF (A.), QUERIDO (A.) et LATASTE (C.). — 1939, 130, 1580.
- LWOFF (A.), QUERIDO (A.), ALBEAUX-FERNET (M.). — 139, 131, 182.
- LWOFF (A.), QUERIDO (A.), DIGONNET et M^{lle} GARNIER. — 1939, 131, 900.
- LWOFF, BALLIF (L.), QUERIDO (A.) et ORNSTEIN (I.) — 1939, 131, 903.
- LWOFF (A.) et LWOFF (M.). — *Proc. Roy. Soc. London S. B.*, 122, 352, mai 1937. *C. R. Ac. Sc.*, 203, 520, 1936.
- MATTHEWS (R. S.). — *J. A. M. A.*, 114, 1148, 24 sept. 1938.
- MEIKLEJOHN (A. P.) et KARK (R.). — *New England. Med Journ.*, 1939, 221, p. 519.
- MEUNIER (P.) et RAOUL (Y.). — Le diagnostic chimique des avitaminoses de cliniques actuelles. Masson et C^{ie} éditeurs, 1942.
- MOREAU (E.). — Les formes monosymptomatiques des avitaminoses nicotiniques. Thèse Paris, 1942.
- RAOUL (Y.) et CRÉPY (M^{lle} O.). — *Bull. Soc. chim. biol.*, 1941, 23, p. 362.
- REITZENSTEIN. — *Journ. für Prakt. Chem.*, 1903, 68, 251.
- ROSENBLUM et JOLIFFE. — *Journ. f. Biol. Chem.*, 1940, 134, p. 137.
- SEBRELL (W. H.). — *J. A. M. A.*, 110, n° 20, 1665 (4 mai 1938).
- SPIEGEL (L.), BER. — 1899, 32, 3, 2834.
- SPIES (T. D.), COOPER (C.) et BLANKENHORN (M. A.). — *J. A. M. A.*, 110, 622, 28 février 1938.
- SPIES (T. D.), GROSS (E.) et SASAKI (Y.). — *South. Med. J.*, 31, 483, mai 1938 ; *Proc. Soc. Exper. Biol. and Med.*, 1938, 38, p. 178.
- SUSUKI (U.), SHINAMURA (T.) et ODAKE (S.). — *Biochem. Ztschr.*, 1912, 43, p. 89.
- SWAMINATHAN. — *Nature London*, 141, 830, 7 mai 1938.
- SWAMINATHAN. — *Indian Journ. of Med. Research*, 1939, 27, p. 417.
- VILLELA (G.). — *O Hospital*, 17, 1949, 431.
- VILTER (R. W.), VILTER (S. P.) et SPIES (T. D.). — *J. A. M. A.*, 112, n° 5, 420, 1939.
- VILTER (R. W.), SPIES (T. D.) et MATTHEWS. — *J. Biol. Chem.*, 125, 85, 1938.
- VONGERICHTEN. — *Ber. deutsch. Chem. Ges.*, 32, 2571, 1899.

WARBURG (O.) et CHRISTIAN (W.). — *Bioch. Zeitschr.*, 285, 156,
20 av. 1936.

— *Biochem. Zeitschr.*, 1934, 275, p. 112, 464 ; 1936, 286, p. 81.

WATSON (C. J.). — *Proc. Soc. Exper. Biol. and Med.*, 1938, 39,
p. 514 et 1939, 41, p. 591.

WHEELER (G. A.), GOLDBERGER et BLACKLOCK (M. R.). — *Publ.*
Health Repts, 1922, 37, p. 1063.

ZINCKE (T. H.). — *Lieb. ann.*, 1904, 330, 361 ; 1904, 333, 296.

TABLE DES MATIÈRES

	Pages
INTRODUCTION	13

PREMIÈRE PARTIE

Le dosage de la vit. nicotinique dans le sang.

CHAPITRE I. — Etat de l'acide nicotinique dans le sang	17
CHAPITRE II. — Les méthodes de dosage	18
A. <i>Les méthodes biologiques</i>	19
1 ^o Méthode de A. Lwoff et A. Querido par le test Proteus	20
2 ^o Méthode de R. W. Vilter, T. D. Spies et S. P. Vilter .	22
B. <i>Les méthodes chimiques</i>	23
Fondements de ces méthodes	23
Les différentes techniques	25
Critiques de ces différentes techniques	27
La technique de M. Y. Raoul et M ^{lle} O. Crépy	28
Principes de la méthode	28
Technique et calcul	31

DEUXIÈME PARTIE

Le taux de la vitamine P. P. dans le sang de l'homme normal.

Les chiffres fournis par les auteurs jusqu'à ce jour ...	36
Résultats fournis par la méthode biologique de	
A. Lwoff et A. Querido	37
Résultats fournis par la méthode chimique de	
Y. Raoul et M ^{lle} O. Crépy	37
<i>Leur interprétation</i>	41
CONCLUSIONS	42

